

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Andrea Zrinjan

6894/PT

UTJECAJ DODATKA SOKA VIŠNJE NA SASTAV I SVOJSTVA
NAPITKA OD LISTA MASLINE

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Primjena inovativnih tehnologija u proizvodnji biljnih ekstrakata kao sastojaka funkcionalne hrane (IT-PE-FF)

Mentor: Prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ DODATKA SOKA VIŠNJE NA SASTAV I SVOJSTVA NAPITKA OD LISTA MASLINE

Andrea Zrinjan, 0058205058

Sažetak: Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka soka višnje na sastav i svojstva napitka od lista masline te mogućnost korištenja tih napitaka u proizvodnji funkcionalnih napitaka. Napitci su pripremljeni tako što je u napitak od lista masline dodavan koncentrirani sok višnje Maraske u različitim volumenima s i bez dodatka šećera. Određivana je topljiva suha tvar, pH vrijednost, boja (CIELab metodom), ukupni fenoli i antioksidacijski kapacitet (DPPH metodom) te senzorska svojstva pripremljenih napitaka. Dodatkom soka višnje povećala se topljiva suha tvar, ukupni fenoli i antioksidacijski kapacitet, a smanjila pH vrijednost pripremljenih napitaka u odnosu na sam napitak od lista masline. Mjerenje boje ukazalo je na smanjenje L i H vrijednosti, te porasta a, b i C vrijednosti. Dodatak soka višnje u napitak od lista masline poboljšao je senzorska svojstva napitka, gorak okus se smanjio i povećala se harmoničnost okusa napitka, te su najbolje ocijenjeni uzorci s najvećim dodatkom koncentriranog soka.

Ključne riječi: antioksidacijski kapacitet, fenoli, list masline, napitak, sok višnje

Rad sadrži: 35 stranica, 10 slika, 5 tablica, 63 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Pomoć pri izradi: dr. sc. Maja Repajić

Datum obrane: 19.09.2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology
Department of Food Engineering

Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

THE EFFECT OF SOUR CHERRY JUICE ADDITION ON COMPOSITION AND PROPERTIES OF OLIVE LEAF DRINK **Andrea Zrinjan, 0058205058**

Abstract: The aim of this study was to examine the effect of sour cherry juice addition on composition and properties of olive leaf drink and the possibility of using those drinks in the production of functional drinks. The drinks were prepared by adding different volumes of sour cherry Maraska concentrated juice in olive leaf drink with or without added sugar. The soluble solids, pH values, color (CIELab method), total phenols, antioxidant capacity (DPPH method) and sensory properties of prepared drinks were examined. Addition of sour cherry juice in olive leaf drink increased soluble solids, total phenols and antioxidant capacity of prepared drinks, while pH value was decreased. Color measurement indicated a decrease in values L and H, while values a, b and C were increased. The addition of sour cherry juice in olive leaf drink improved the sensory properties of the drink, the sour taste was decreased and the harmonic taste was increased, and the best rated drinks were ones with the largest addition of concentrated juice.

Keywords: antioxidant capacity, phenols, olive leaf, drink, sour cherry juice

Thesis contains: 35 pages, 10 figures, 5 tables, 63 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Full Professor PhD Branka Levaj

Technical support and assistance: Scientific Assistant PhD Maja Repajić

Defence date: September 19th 2018

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Maslina	2
2.1.1. Kemijski sastav lista masline	3
2.1.2. Fenolni spojevi	3
2.1.3. Oleuropein	4
2.2. Utjecaj fenolnih spojeva iz lista masline na zdravlje	5
2.3. Višnja	6
2.4. Osvježavajuća bezalkoholna pića	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO	9
3.1. MATERIJALI	9
3.1.1. Sirovine za pripremu napitaka	9
3.1.2. Priprema napitka od lista masline	9
3.1.3. Priprema napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje	10
3.1.4. Otapala i reagensi	11
3.1.5. Aparatura i pribor	11
3.2. METODE RADA	12
3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari	12
3.2.2. Određivanje pH vrijednosti	13
3.2.3. Određivanje boje	13
3.2.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola	14
3.2.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta	16
3.2.6. Određivanje senzorskih svojstava	17
3.3. REZULTATI I RASPRAVA	18
4. ZAKLJUČAK	28
5. LITERATURA	29

1. UVOD

U prošlosti je list masline bio vrlo cijenjeno i često korišteno ljekovito sredstvo koje se koristilo za sprječavanje i liječenje različitih bolesti. Smatra se da su drevni Egipćani bili ti koji su otkrili njegova ljekovita svojstva i koristili ga za liječenje groznice te za mumificiranje faraona.

U današnje vrijeme velika količina lišća masline zaostaje prilikom obrezivanja stabala maslina kao i u industriji proizvodnje maslinovog ulja, nakon odvajanja plodova masline za daljnju preradu. Upravo iz tog razloga se javlja potreba za iskorištenjem te zaostale biomase, koja predstavlja vrlo jeftin izvor spojeva visoke biološke vrijednosti.

List masline je zbog prisutnog visokog udjela različitih skupina fenolnih spojeva privukao interes brojnih znanstvenika te je u brojnim istraživanjima dokazan njegov pozitivan učinak na zdravlje s obzirom na to da pokazuje antioksidacijsko, antimikrobno i protuupalno djelovanje. Također, ima pozitivno djelovanje na određena zdravstvena stanja, kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes, visoki krvni tlak, brojne bakterijske i virusne infekcije itd. Lišće masline se najčešće suši i koristi za pripremu čaja, dok ekstrakt lista masline ima puno širu primjenu u medicini, kozmetičkoj, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji.

S godinama sve više raste interes potrošača za „funkcionalnom hranom“, koja pruža veću dobrobit za zdravlje nego uobičajena s obzirom na to da predstavlja značajniji izvor nutrijenata. Konzumiranje funkcionalnih proizvoda može poboljšati opće zdravstveno stanje, pa čak i smanjiti rizik razvoja pojedinih bolesti (Čalić i sur., 2011). U porastu je i upotreba biljnih ekstrakata, koji su bogat izvor bioaktivnih spojeva povoljnih za ljudsko zdravlje, u proizvodnji funkcionalnih pića te je u znanstvenim radovima istaknuto kako bi se i sam ekstrakt lista masline potencijalno mogao koristiti u tu svrhu s obzirom na to da je pokazao zadovoljavajuća biološka i nutritivna svojstva.

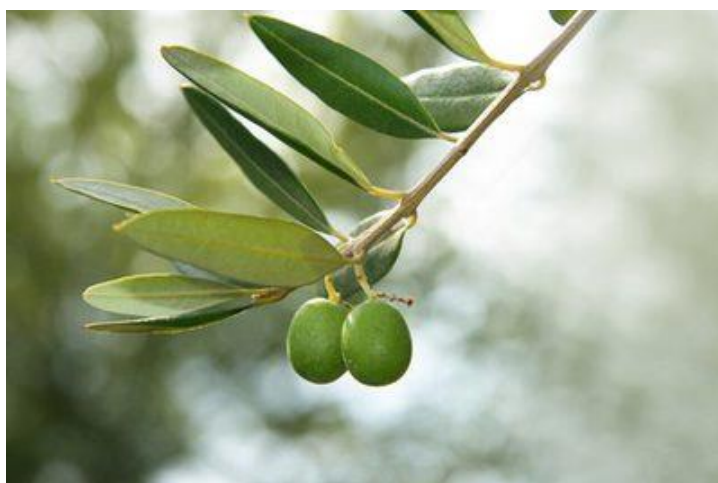
Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka koncentriranog soka višnje Maraske s i bez dodatka saharoze na sastav i svojstva napitka od lista masline pri čemu su određivana fizikalno-kemijska svojstva (topljiva suha tvar, pH vrijednost i boja), koncentracija ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet te senzorska svojstva (boja, miris, okus i aroma) pripremljenih napitaka.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Maslina

Maslina (*Olea europaea* L.) je razgranato, zimzeleno stablo iz porodice *Oleaceae*, koje može narasti 8 do 10 metara visine. Stablo masline je sporog rasta te može doživjeti starost i do tisuću godina. Plod masline je mesnata koštunica, koja se najčešće koristi za proizvodnju maslinovog ulja. Listovi masline su duguljasti i kožnati (slika 1). Površina lista je sivkasto zelene boje, dok je naličje dlakavo i srebrnasto bijele boje (Kantonci, 2006).

Premda se plodovi masline najviše koriste, komercijalno se sve više počinju cijeniti i listovi masline čija su brojna ljekovita svojstva poznata još od davnina. Na području Mediterana listovi masline se već nekoliko tisuća godina koriste u narodnoj medicini za snižavanje temperature i liječenje raznih bolesti, kao što su primjerice gripa i malarija (Benavente-Garcia i sur., 2000).



Slika 1. Grančica masline (Anonymous 1, 2017)

Listovi masline, jedan su od nusproizvoda u maslinarstvu, koji se gomilaju prilikom obrezivanja stabala maslina i procjenjuje se da se godišnje po stablu masline dobije oko 25 kg grančica i lišća te se isto tako mogu naći u velikim količinama u proizvodnji maslinovog ulja (Herrero i sur., 2011). Zaostalo lišće masline nije iskorišteno u industriji, nego se obično koristilo kao hrana za životinje ili bacalo s preostalim otpadom, ali posljednjih godina porastao je interes znanstvenika za iskorištenjem lišća masline zbog prisutnog visokog udjela fenolnih spojeva, koji imaju veliku antioksidacijsku aktivnost. Danas su listovi masline na tržištu kao proizvod dostupni u obliku osušenih listova masline, ekstrakta, praha i kapsula (Abaza i sur., 2015).

2.1.1. Kemijski sastav lista masline

Kemijski sastav lista masline varira ovisno o nekoliko uvjeta kao što su porijeklo, raspored grana na stablu, uvjetima skladištenja, udjelu vlage i klimatskim uvjetima (Martin Garcia i sur., 2003).

Ibrahim i sur. (2016) određivali su kemijski i nutritivni sastav listova masline te su dokazali kako su listovi masline bogat izvor sirovih vlakana i minerala, od kojih je u najvećoj koncentraciji prisutan kalcij (1575.0 mg/100 g), a nakon njega kalij (656.0 mg/100 g). Fosfor je određen u najmanjoj koncentraciji u odnosu na ostale glavne elemente prisutne u listovima, a što se tiče elemenata u tragovima, dokazano je kako je list masline bogat izvor željeza (19.1 mg/100 g) te su još prisutni mangan, cink i bakar u nešto manjim koncentracijama.

Udio sirovih proteina kreće se u rasponu od 9.5 do 12.9 % (Delgado-Pertíñez i sur., 2000). Proteini iz lista masline sadrže sve esencijalne aminokiseline, osim metionina, a ukupna količina prisutnih esencijalnih aminokiselina iznosi 57.51 g izraženo na 100 g proteina. Najzastupljenija esencijalna aminokiselina je lizin (17.12 %), zatim leucin (8.82 %), aromatske aminokiseline (fenilalanin + tirozin) i cistein (Ibrahim i sur., 2016) .

Od ukupnih ugljikohidrata, čiji udio u svježim listovima masline varira od 8.74 do 32.63 % ovisno o sorti (Cavalheiro i sur., 2015), u najvećoj koncentraciji ističe se glukoza (49 %) i u znatno manjem udjelu saharoza (6 %), te su prisutni i šećerni alkoholi, poliolli od kojih je najznačajniji manitol u koncentraciji od 41 % (Gómez González i sur., 2010).

Također bogat su izvor fenolnih spojeva, od kojih je najzastupljeniji oleuropein. List masline još sadrži kalkone (olivin, olivin diglukozid) i triterpene, od kojih je najzastupljenija oleanolna kiselina (3-3,5 %), te u manjim količinama ursolna kiselina, eritrodiol i uvaol (Guinda i sur., 2015; Dekanski i sur., 2011). Upravo kemijski sastav je taj koji čini list masline jakim prirodnim antioksidansom (Dekanski i sur., 2011).

2.1.2. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi ili polifenoli su sekundarni biljni metaboliti prisutni u velikom broju biljaka u značajnim količinama. Rezultati brojnih istraživanja pokazala su kako su fenolni spojevi iz lista masline biološki aktivni što znači da mogu smanjiti rizik nekih kroničnih bolesti (Abaza i sur., 2015). U brojnim istraživanjima dokazano je da fenolni spojevi pokazuju širok raspon

fizioloških svojstava, kao što je antialergijsko, protuupalno, antioksidacijsko, antibakterijsko, antikancerogeno i antiviralno (Balasundram i sur., 2006).

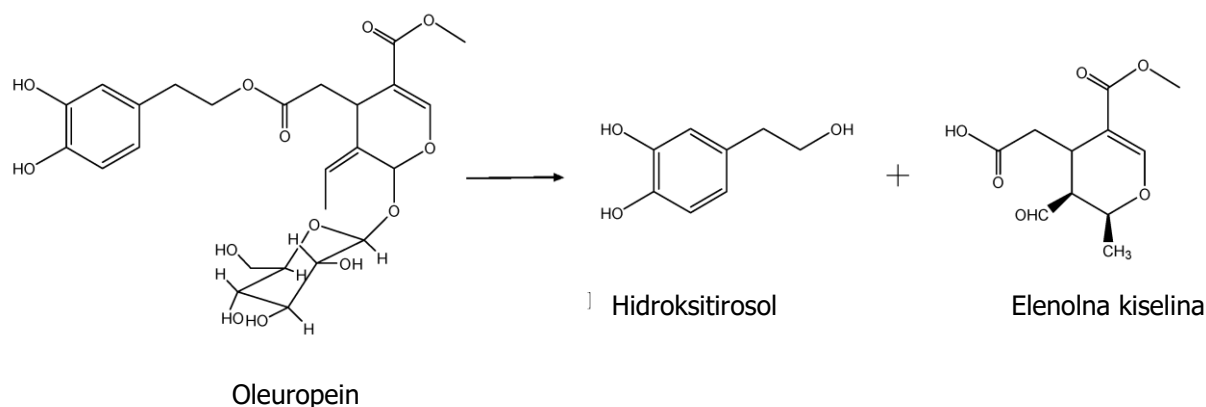
U listovima masline prisutne su brojne skupine fenolnih spojeva u različitim koncentracijama. Na kvalitativni i kvantitativni sastav fenolnih spojeva u listovima masline može utjecati vrijeme sakupljanja lišća, uvjeti sušenja, zona uzgoja, proces ekstrakcije i sorta (Abaza i sur., 2015). Najzastupljeniji fenolni spojevi koji su prisutni u listovima masline u višim koncentracijama su oleuropein, verbaskozid, ligstrozid, tirosol i hidroksitirosol. Od flavonoida najzastupljeniji su spojevi iz skupine flavona (luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid, diosmetin-7-glukozid luteolin i diosmetin), flavonola (rutin) i flavan-3-ola (katehin) (El i Karakaya, 2009).

2.1.3. Oleuropein

Oleuropein je glavni i najrasprostranjeniji fenolni spoj prisutan u listu i plodu masline te je odgovoran za karakterističan gorak okus masline. Ubraja se u skupinu kemijskih spojeva poznatih kao sekoiridoidi i prema svome kemijskom sastavu je heterozidni ester elenolne kiseline i dihidroksifeniletanola, čija je empirijska formula $C_{25}H_{32}O_{13}$ (Chinou, 2011). Koncentracija oleuropeina u listu masline iznosi 60-90 mg/g suhe tvari, dok u samom plodu masline je niža i može biti do 14 mg/g suhe tvari (Tayoub i sur., 2011).

Sekoiridoidi su prisutni isključivo u biljkama koje pripadaju obitelji *Oleaceae*, koja uključuje *Olea europaea* L. (maslinu). Karakterizira ih prisutnost ili elenolne kiseline ili derivata elenolne kiseline u molekulskoj strukturi, a najrasprostranjeniji derivati sekoiridoid glukozida u plodovima maslina su oleuropein, demetiloleuropein, ligstrozid i nuzhen (Silva i sur., 2006; Servili i Montedoro, 2002).

Tijekom sazrijevanja masline, pa i tijekom skladištenja listova masline dolazi do degradacije oleuropeina, pri čemu se njegova koncentracija smanjuje, a kao glavni produkt degradacije nastaje hidroksitirosol (slika 2). Hidroksitirosol (3,4-dihidroksifenil etanol) je široko rasprostranjeni fenolni spoj prisutan u biljkama u obliku oleuropein glikozida, pa tako i u različitim dijelovima masline, a najviše u maslinovom ulju. Postoji velik broj čimbenika zbog kojih dolazi do hidrolize oleuropeina, a neki od njih su visoka temperatura, prisutnost zraka, svjetla, kiselina, metalnih iona i drugi (Yuan i sur., 2015).



Slika 2. Reakcija hidrolize oleuropeina (Yuan i sur., 2015)

2.2. Utjecaj fenolnih spojeva iz lista masline na zdravlje

Lišće masline kao i ekstrakt dobiven iz listova masline se sve češće zbog svojih brojnih bioloških učinaka na cjelokupno zdravlje čovjeka koriste u komplementarnoj i alternativnoj medicini (Sudjana i sur., 2009). Benavente Garcia i sur. (2000) su u svome istraživanju dokazali kako je upravo visok udio fenolnih spojeva u listu masline odgovoran za brojna fiziološka svojstva lista masline. U brojnim studijama dokazano je da list masline ima antioksidacijsko, antihipertenzivno, antimikrobno, antiaterogeno, anti-inflamatorno i hipoglikemijsko djelovanje (El i Karakaya, 2009).

Antioksidacijski kapacitet ekstrakta lista masline veći je od antioksidacijskog kapaciteta vitamina C i E, pa i oleuropeina što se može objasniti time što oleuropein hidrolizira do hidroksitirosola, koji je i sam prilično jak antioksidans (Benavente-Garcia i sur., 2000). Antioksidansi su molekule koje neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala tako što doniraju jedan elektron ili vodikov atom te na taj način štite ljudski organizam od mogućih bolesti (Marković i Talić, 2013). U istraživanju Zorić (2017) određivana je antioksidacijska aktivnost oleuropeina i hidroksitirosola iz vodenog ekstrakta lista masline pomoću tri metode (ABTS, FRAP i CUPRAC metode). Sve tri metode su pokazale da navedene tvari imaju jako antioksidacijsko djelovanje, pri čemu su za hidroksitirosol dobivene veće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta u odnosu na oleuropein.

Pereira i sur. (2007) utvrdili su antimikrobnu aktivnost vodenog ekstrakta lista masline, u kojem je oleuropein bio najzastupljeniji spoj (oko 73 % od ukupnih identificiranih fenolnih spojeva), protiv gram-pozitivnih (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*) i gram-negativnih bakterija (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Klebsiella*

pneumoniae) te gljiva (*Candida albicans* i *Cryptococcus neoformans*). Na temelju provedenog istraživanja zaključili su kako korištenje listova masline kao nutraceutika smanjuje rizik od mikrobnih infekcija u intestinalnom i respiratornom traktu zahvaljujući visokom udjelu prisutnih fenolnih spojeva.

Ekstrakt lista masline s visokim udjelom oleuropeina i njegovim hidrolizatima (oleuropein aglikon i hidroksitirozol) značajno je smanjio razinu ukupnih kolesterola u serumu, triglicerida i LDL-kolesterola, a povećao razinu HDL-kolesterola te se hipokolesterolemija, kao i usporavanje procesa lipidne peroksidacije i povećanje aktivnosti antioksidacijskih enzima može pripisati upravo takvim ekstraktima (Zorić, 2017).

U radu Perrinjaquet-Moccetti i sur. (2008) provedeno je ispitivanje antihipertenzivnog djelovanja EFLA® ekstrakta maslinova lista na ljudima (40 jednojajčanih blizanaca), koji su uzimali dnevne doze od 500 ili 1000 mg u periodu od 8 tjedana, na sistolički i dijastolički krvni tlak. Kod grupe ljudi koja je uzimala dnevnu dozu od 1000 mg zapaženo je smanjenje sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka. Slične djelotvornosti u snižavanju sistoličkog i dijastoličkog tlaka zapažena su i u istraživanju Susalit i sur. (2011), gdje su ispitanici, kojima je dijagnosticirana blaga hipertenzija ili stadij 1, uzimali dva puta dnevno po 500 mg EFLA® ekstrakta, čime je dokazano antihipertenzivno djelovanje ekstrakta lista masline.

2.3. Višnja

Višnja Maraska (*Prunus cerasus* var. *marasca*) je autohtona sorta višnje karakteristična za područje Dalmacije, čiji plodovi su intenzivno crvene boje, specifične arome i visoke kvalitete (slika 3). Zbog kiselog okusa, višnje se manje konzumiraju u svježem stanju, te se uglavnom prerađuju u različite proizvode, kao što su sokovi, džemovi, marmelade, koncentрати i brojni drugi. Sok višnje najčešće se ne konzumira kao 100 %-tni voćni sok zbog izraženog kiselog okusa već se najčešće konzumira kao nektar. Nektar se uobičajeno proizvodi iz prethodno koncentriranog soka koji se razrjeđuje s vodom uz dodatak šećera kako bi se postigao harmoničniji okus (Damar i Eksi, 2016).

Višnje su bogate fenolnim spojevima, od kojih su najzastupljeniji spojevi iz skupine flavonoida. Osim antocijana, koji su najbrojniji iz skupine flavonoida, prisutni su i flavonoli (kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-rutinozid i kamferol-3-rutinozid), flavan-3-oli (katehin i epigalokatehin) te fenolne kiseline (klorogenska kiselina i p-kumarinska kiselina)(Chaovanalikit i Wrolstad, 2004; Ferretti i sur., 2010). U višnjama su od antocijana u

najvećoj koncentraciji prisutni cijanidin-3-glukozilrutinozid, cijanidin-3-rutinozid, cijanidin-3-soforozid i cijanidin-3-glukozid (Damar i Eksi, 2012). Jedno od najpoznatijih svojstava antocijana je njihova jaka antioksidacijska aktivnost u metaboličkim reakcijama zbog toga što su sposobni neutralizirati slobodne radikale kisika i drugih reaktivnih vrsta (Kirakosyani sur.,2009).



Slika 3. Višnja Maraska (Anonymous 2, 2010)

U radu Repajić i sur. (2015) dokazano je kako su udjeli polifenola i njihov antioksidacijski učinak bili uglavnom isti tijekom koncentriranja soka, odnosno tijekom prerade svježih plodova višnje u sok, koji je nakon toga podvrgnut koncentriranju. Tijekom procesa proizvodnje soka zagrijavanje i obrada enzimima pridonose učinkovitijoj ekstrakciji i višoj koncentraciji antocijana u soku što u konačnici dovodi i do visoke koncentracije antocijana u samom koncentriranom soku. Unatoč neznatnom smanjenju pojedinih i ukupne količine antocijana u koncentriranom soku, njihova koncentracija je i dalje bila viša nego u svježim plodovima višnje. Uzimajući u obzir sastav i stabilnost polifenolnih spojeva tijekom prerade plodova višnje, dobiveni koncentrirani sok se pokazao pogodnim za upotrebu u proizvodnji funkcionalne hrane.

2.4. Osvježavajuća bezalkoholna pića

Osvježavajuća bezalkoholna pića čine vrlo raznoliku skupinu proizvoda, a dobivaju se odgovarajućim tehnološkim postupkom od vode ili mineralne vode, šećera, voćnog soka, koncentriranog voćnog soka, voćne pulpe, voćne kaše, voćne baze, biljnih ekstrakata i drugih sastojaka, s dodatkom ili bez dodatka ugljičnog dioksida i aditiva dopuštenih pravilnikom (Pravilnik, 1997).

U brojna bezalkoholna pića dodaju se razni aditivi kao što su umjetna sladila, sintetske arome, sintetske boje, pojačivači okusa, a neki od tih sastojaka u prekomjernim količinama

mogu negativno utjecati na zdravlje. Upravo iz tog razloga javlja se potreba za proizvodnjom napitaka koja nemaju samo osvježavajuću nego i nutritivnu vrijednost. Takvi napitci sve su traženiji na tržištu, nazivaju se funkcionalni napitci i uključuju napitke obogaćene sokovima, vitaminima i mineralima, sportske i energetske napitke, mliječne napitke, biljne i voćne napitke te nutraceutike (Kregiel, 2015). Osim navedenih veliki interes proizvođača izazvalo je korištenje biljnih ekstrakata u proizvodnji funkcionalnih napitaka (Ashurst, 2005; Gruenwald, 2009; Vinatoru, 2001) s obzirom na to da biljni ekstrakti sadrže široki raspon bioaktivnih komponenata, kao što su fenolni spojevi koji imaju visoku antioksidacijsku aktivnost.

Biljni ekstrakt može se definirati kao smjesa spojeva dobivena različitim postupkom ekstrakcije iz svježih ili sušenih biljaka ili dijelova biljaka (list, cvijet, sjemenke, korijen ili kora) (Vinatoru, 2001). Za proizvodnju funkcionalnih napitaka koriste se ekstrakti biljnog podrijetla, koji moraju biti dopušteni za ljudsku prehranu, a mogu se dobiti vodenom ili alkoholnom ekstrakcijom, digestijom, maceracijom ili destilacijom različitih dijelova biljaka (Ashurst, 2005). Najčešće korišteni biljni ekstrakti za proizvodnju funkcionalnih napitka su ekstrakti matičnjaka, ginsenga, biljke ginko te guarane (Gruenwald, 2009), a općenito za proizvodnju napitaka ekstrakt čaja (*Camellia sinensis*) koji predstavlja bazu za cijeli niz napitaka poznatih pod nazivom „ledeni čaj“.

Kod pripreme funkcionalnih napitaka s dodatkom biljnih ekstrakta, u većini slučajeva biljni ekstrakt se dodaje u fazi pripreme sirupa s ostalim sastojcima kao što su arome, boje, šećeri ili sladila i konzervansi. Biljni ekstrakti imaju dvije nepoželjne karakteristike koje otežavaju njihovu upotrebu. Imaju vlastiti karakterističan okus, koji nije nužno poželjan i može maskirati željeni okus proizvoda i intenzivnu smeđu boju. S obzirom na to da se ekstrakti obično dodaju u napitke u malim udjelima onda njihov dodatak značajno ne utječe na okus i boju konačnog proizvoda, već je boja samog ekstrakta obično prekrivena narančastom, žutom ili crvenom bojom koju ima većina takvih proizvoda (Ashurst, 2005).

Ledeni čajevi su osvježavajuća pića koja ovisno o vrsti ekstrakta čaja mogu biti mutni ili bistri proizvod specifičnog okusa i crvenkaste do smeđe boje. Različite vrste čajeva odnosno ekstrakata kao što su crni, zeleni i bijeli čaj, mogu se dodati vodi i time se dobiva napitak. S obzirom na to da su brojna istraživanja pokazala razne benefite napitaka na bazi crnog čaja na zdravlje npr. štite stanice i tkiva od oksidacijskog oštećenja (Gruenwald, 2009) i ona u biti predstavljaju funkcionalne napitke. Okus ekstrakta čaja u njima se ne pokušava zamaskirati već obogatiti dodatkom određene arome.

Ako bi se želio proširiti asortiman ledenih čajeva kao baza umjesto ekstrakta crnog čaja mogao bi se koristiti i ekstrakt lista masline koji predstavlja potencijalni sastojak u proizvodnji funkcionalnih napitaka zbog visokog udjela fenolnih spojeva i time visokog antioksidacijskog kapaciteta (Delgado-Pertinez i sur., 2000). Međutim, visok udio specifičnih fenolnih spojeva ekstraktu lista masline daje gorkast okus.

Kranz i sur. (2010) ispitali su učinkovitost maskiranja gorkog okusa ekstrakta lista masline dodanog u voćni smoothie dodatkom natrijevog ciklamata, natrijevog klorida i saharoze pomoću senzorske analize u kojoj je sudjelovalo 11 panelista. Ekstrakt je s obzirom na gorak okus dodan u niskoj koncentraciji (8,05 mg/100 g), pri čemu sva tri dodatka su uspješno maskirala gorak okus, dok pri višim koncentracijama (20 mg/100 g) natrijev ciklamat i saharoza su smanjili percepciju gorkog okusa za 39,9 % i 24,9 %, a natrij klorid ga nije mogao učinkovito maskirati.

Za maskiranje okusa i još dodatno obogaćivanje napitka na bazi lista masline potencijalno se mogu koristiti voćni sokovi. Na taj način mogu se poboljšati senzorska svojstva ekstrakta lista masline, kao na primjer gorak okus samog ekstrakta se može ublažiti dodatkom koncentriranog voćnog soka. Na taj način se može utjecati na boju, okus i aromu samog pića bez potrebe za dodatkom umjetnih bojila, sladila i aroma. Dodatkom npr. koncentriranog soka višnje može se bitno povećati i biološka i antioksidacijska svojstva napitka s obzirom na to da i sok višnje predstavlja bogat izvor biološki aktivnih spojeva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Sirovine za pripremu napitaka

U ovom radu za pripremu napitaka korišten je koncentrirani sok višnje Maraske i osušeno lišće masline (*Olea europaea* L.), koje predstavlja mješavinu sorata Orkula (90 %), Leccina (5 %), Marokanka i Garbunčela. Koncentrirani sok proizveden je iz višnje Maraske (*Prunus cerasus* var. *marasca*) (Maraska d.d., Zadar). Lišće masline prikupljeno je u masliniku u Ravnim kotarima u studenom 2016. godine te dopremljeno na Prehrambeno-biotehnološki fakultet, gdje je osušeno na sobnoj temperaturi.

3.1.2. Priprema napitka od lista masline

Za pripremu napitka korišteni su osušeni listovi masline, koji su čuvani u kartonskoj kutiji na sobnoj temperaturi. Listići su prije samog kuhanja oprani i ponovno kratko posušeni na zraku

pri sobnoj temperaturi te usitnjeni na manje dijelove. Napitak je pripremljen prema unaprijed određenom omjeru 4 g listića u 100 mL destilirane vode. Listići su stavljani u destiliranu vodu, koja je prethodno zagrijana do vrenja te kuhani 3 minute. Nakon toga listići su odstajali u vodi još 10 minuta. Napitak je na kraju procijeđen preko cjedila kako bi se uklonili listići te profiltriran pomoću filter papira.

3.1.3. Priprema napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje

Prethodno pripremljen napitak od lista masline je ohlađen i korišten za pripremu napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje. Pripremljena su 4 napitka volumena 250 mL svaki tako što je napitak od lista masline direktno pomiješan s različitim volumenima koncentriranog soka višnje. Dodani volumeni koncentriranog soka višnje za 100 mL napitka od lista masline iznose 2, 4, 6 i 8 mL.

Na isti način pripremljena su 4 napitka kao mješavina napitka od lista masline i koncentriranog soka višnje uz dodatak šećera (saharoze). Koncentrirani sok višnje i saharoza dodani su u omjeru 1:1, odnosno tako da je volumen dodanog koncentriranog soka dvostruko umanjen, te je dodana saharoze tako da u konačnici topljiva suha tvar pripremljenih napitaka sa saharozom bude jednaka topljivoj suhoj tvari napitaka bez saharoze. U tablici 1 prikazan je popis svih uzoraka prema oznakama korištenim u ovom radu. Pripremljeni napitci su pohranjeni u prethodno oprane i osušene staklenke te skladišteni u hladnjaku sve do provedbe analize.

Tablica 1. Popis uzoraka s pripadajućim oznakama

OZNAKA	UZORCI
M	Napitak od lista masline
K	Koncentrirani sok višnje
	PRIPREMA NAPITAKA
V1	98 mL napitka od lista masline + 2 mL koncentriranog soka višnje
V2	96 mL napitka od lista masline + 4 mL koncentriranog soka višnje
V3	94 mL napitka od lista masline + 6 mL koncentriranog soka višnje
V4	92 mL napitka od lista masline + 8 mL koncentriranog soka višnje
V5	98,20 mL napitka od lista masline + 1 mL koncentriranog soka višnje + 0,80 g saharoze
V6	96,40 mL napitka od lista masline + 2 mL koncentriranog soka višnje + 1,60 g saharoze
V7	94,85 mL napitka od lista masline + 3 mL koncentriranog soka višnje + 2,15 g saharoze
V8	92,80 mL napitka od lista masline + 4 mL koncentriranog soka višnje + 3,20 g saharoze

3.1.4. Otapala i reagensi

- destilirana voda
- Folin-Ciocalteu reagens (Merck, Njemačka)
- Zasićena otopina natrijeva karbonata (20 %-tna otopina)

Priprema otopine: Odvaži se 200 g anhidrida natrijeva karbonata i otopi u 800 mL vruće destilirane vode te ostavi da se ohladi na sobnu temperaturu. Nakon toga doda se nekoliko kristalića natrijeva karbonata i nadopuni u odmjernoj tikvici od 1000 mL. Nakon 24 sata pripremljena otopina se filtrira.

- 100 %-tni metanol (Avantor Performance Materials, Poljska)
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)(Sigma-Aldrich, Njemačka)
- 0,2 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)

Priprema otopine: U plastičnoj lađici za vaganje odvaži se 0,0079 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala te se kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL. Pripremljenu otopinu DPPH potrebno je čuvati u zatvorenoj tikvici na tamnom mjestu.

3.1.5. Aparatura i pribor

Aparatura

- Tehnička vaga K7 (E. Mettler, Zürich)
- Analitička vaga AX224 (Ohaus Corporation, SAD)
- Digitalni refraktometar (ATAGO, PAL, Japan)
- SevenEasy pH-metar (Mettler Toledo, Švicarska)
- Vortex MS2 (IKA, SAD)
- Spektrofotometar UV – 1600 PC (VWR, SAD)
- Vodena kupelj od rotavapora B 490 (Buchi Labortechnik AG, Švicarska)
- Spectrophotometer CM-5, Chroma meter CR-5 (Konica Minolta)

Pribor

- Menzure volumena 50 mL i 100 mL
- Filter papir
- Stakleni lijevak
- Stakleni štapić
- Odmjerna tikvica od 100 mL

- Staklene kivete
- Plastična lađica za vaganje
- Metalna špatula
- Staklene epruvete
- Metalni stalak za epruvete
- Mikropipete, volumena 200 i 1000 μL
- Laboratorijske čaše

3.2. METODE RADA

Pripremljeni napitci su prije provedbe analize temperirani na sobnu temperaturu. U ovom radu određivana su fizikalno-kemijska svojstva (topljiva suha tvar, pH vrijednost i boja), koncentracija ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet (DPPH metodom) pripremljenih napitaka, samog koncentriranog soka višnje i napitka od lista masline. Također, provedena je i senzorska analiza napitaka primjenom kvantitativne deskriptivne analize (QDA). Sve analize su provedene u dva paralelna određivanja.

3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari

Princip određivanja

Topljiva suha tvar ispitivanih uzoraka određivana je pomoću ručnog digitalnog refraktometra direktnim očitavanjem vrijednosti s uređaja. Refraktometar je baždaren prema destiliranoj vodi na 20 °C, prema kojoj mu je utvrđena 0 (nula) na skali za očitavanje. Refraktometrija je analitički postupak, koji se temelji na fizikalnom zakonu loma (refrakcije) svjetla. Prema tome zakonu zraka svjetla se lomi pod određenim kutom na razdjelnoj graničnoj ravnini u kojoj se dvije tvari različite koncentracije dodiruju. Taj kut, nazvan indeks loma, mjeri se u kutnim stupnjevima (Bradley, 2010).

Postupak određivanja

Refraktometar je prije početka mjerenja potrebno izbaždariti s destiliranom vodom na vrijednost 0 (nula). Zatim se nanese dio uzorka na optičko okno te se na refraktometru pritiskom na tipku „start“ direktno očitava vrijednost topljive suhe tvari ispitivanog uzorka. Određivanje topljive suhe tvari pojedinog uzorka provodi se u dva ponavljanja. Dobivene vrijednosti iskazane su u stupnjevima Brix-a (°Brix) što je težinski %.

3.2.2. Određivanje pH vrijednosti

Princip određivanja

Mjerenje pH vrijednosti ispitivanih uzoraka provodi se pomoću pH-metra uranjanjem kombinirane elektrode u uzorak te direktnim očitavanjem vrijednosti s ekrana uređaja.

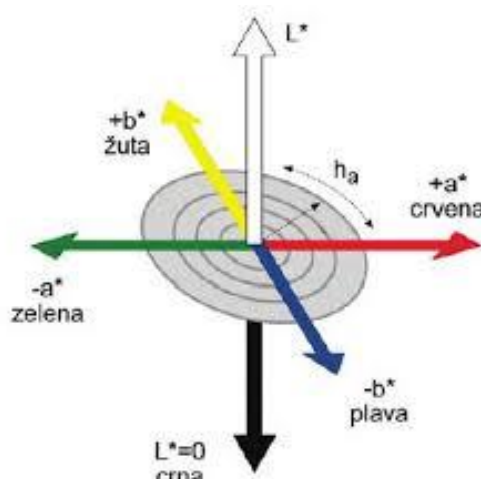
Postupak određivanja

Prije samog mjerenja elektroda pH-metra se ispere s destiliranom vodom i osuši. Elektroda se zatim uroni u čašu s ispitivanim uzorkom te se očita pH vrijednost s uređaja. Nakon svakog mjerenja elektroda je ponovno isprana destiliranom vodom. Mjerenje pH vrijednosti svakog uzorka provodi se u dva ponavljanja.

3.2.3. Određivanje boje

Princip određivanja

CIELab prostor boja (slika 4) definiran je L^* , a^* , b^* vrijednostima koji su parametri trodimenzionalnog spektra boje i koriste se za objektivno mjerenje boje (Mihoci, 2015). Parametar L^* je mjera svjetline, koja daje skalu boje od crne do bijele. Pri čemu vrijednost 0 označava crnu boju, a vrijednost 100 bijelu boju. Parametar a^* iskazuje spektar od crvene (pozitivne vrijednosti) do zelene (negativne vrijednosti) boje. Vrijednost b^* parametra ukazuje na spektar nijansi između žute (pozitivne vrijednosti) i plave boje (negativne vrijednosti). Veća pozitivna vrijednost parametra b^* označava izraženost žutog dijela spektra (McGuire, 1992.). Iz izmjerenih vrijednosti parametara a^* i b^* mogu se izračunati parametri H° i C prema formulama [1] i [2].



Slika 4. CIELAB prostor boja (Mihoci, 2015)

Postupak određivanja

Prije mjerenja uređaj je baždaren crnom pločicom isporučenom s instrumentom. Dio uzorka ulije se u kivetu, koja se zatim stavi na posebno predviđeno mjesto u uređaju te se očitaju vrijednosti parametara L^* , a^* i b^* . Isti postupak ponovi se sa svakim uzorkom.

Račun

Parametar H° (eng. *Hue angle*) predstavlja ton boje, odnosno vizualni doživljaj boje, a računa se prema formuli:

$$H^\circ = \arctg(b^*/a^*) \quad [1]$$

Parametar C (eng. *Chroma, Saturation*) predstavlja zasićenost ili intenzitet boje. Udaljavanjem od ishodišta, koje je okomito s osi L^* , raste zasićenost boje, odnosno viša je vrijednost parametra C , dok približavanjem ishodištu raste udio sive boje i zasićenost boje se smanjuje što pokazuje niža C vrijednosti. Vrijednost C računa se prema formuli:

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad [2]$$

3.2.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Princip određivanja:

Ukupni fenoli određeni su primjenom spektrofotometrijske metode koja se temelji na oksidaciji fenolnih skupina dodatkom Folin-Ciocalteu-ova reagensa te mjerenjem intenziteta nastalog obojenja pri valnoj duljini 765 nm. Folin-Ciocalteu-ov reagens je smjesa fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline, koje se pri oksidaciji fenolnih skupina do kinona reduciraju u plavo obojene okside volframa i molibdena. Boja nastalog relativno stabilnog plavo obojenog kompleks će biti intenzivnija što je prisutan veći broj hidroksilnih skupina ili oksidirajućih grupa u fenolnim spojevima (Shortle i sur., 2014).

Postupak određivanja:

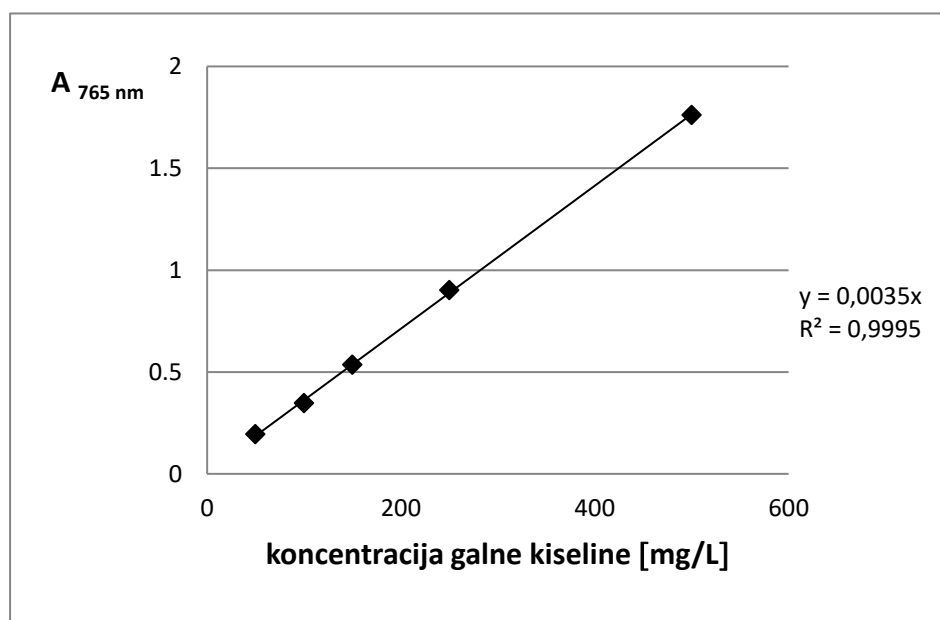
Za potrebe određivanja koncentracije ukupnih fenola uzorci su prethodno razrijeđeni. Uzorci napitaka su razrijeđeni 10 puta, a koncentriranog soka višnje 50 puta. U staklenu epruvetu otpipetira se redom 100 μ L razrijeđenog ekstrakta, 200 μ L Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata te se sve skupa pomiješa pomoću Vortexa. Pripremljeni uzorci se zatim termostatiraju 25 minuta na temperaturi 50 °C. Uzorcima se nakon toga mjeri apsorbancija pri valnoj duljini 765 nm. Slijepa proba se priprema na isti način kao i uzorci, ali umjesto ekstrakta dodaje se 100 μ L destilirane vode.

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 0,5 g galne kiseline i otopi u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL te se tikvica nadopuni destiliranom vodom do oznake. Od tako pripremljene otopine galne kiseline rade se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL tako da se otpipetira redom 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L.

Iz svake tikvice otpipetira se 100 μ L otopine standarda u staklene epruvete. Potom se dodaje redom 200 μ L Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata te se sve skupa pomiješa pomoću Vortexa. Pripremljeni uzorci se zatim termostatiraju 25 minuta na temperaturi 50 °C. Slijepa proba se priprema na isti način, ali umjesto ekstrakta dodaje se 100 μ L destilirane vode. Uzorcima se nakon toga mjeri apsorbancija pri valnoj duljini 765 nm.

Na temelju dobivenih vrijednosti apsorbancija nacrtana se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel. Na apscisi (x-os) nanosene su koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati (y-os) izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini 765 nm (slika 5).



Slika 5. Prikaz ovisnosti apsorbancije o koncentraciji galne kiseline

Račun

Iz dobivenih apsorbancija pri izradi baždarnog pravca u Excelu se izračuna jednadžba pravca koja u ovom radu glasi:

$$Y = 0,0035 * X \quad [3]$$

gdje je: Y – apsorbancija pri 765 nm

X – koncentracija galne kiseline (mg/L).

Izračunata koncentracija galne kiseline (x) ovisno o uzorku pomnoži se s faktorom razrjeđenja te se dobivena vrijednost dijeli s 1000 kako bi se dobila vrijednost ukupnih fenola u mg/mL.

3.2.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta

Princip određivanja

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta korištena je DPPH metoda. Ova metoda temelji se na redukciji stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH radikal), pri čemu dolazi do sparivanja nesparenog elektrona u prisutnosti elektron donora (antioksidansa) i promjene boje iz ljubičaste u žutu što prikazuje reakcija:



DPPH radikal radi nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra (Bondet i sur., 1997). Sparivanjem nesparenog elektrona dolazi do smanjenja intenziteta apsorpcije koje se prati pri valnoj duljini 517 nm (Prior i sur., 2005).

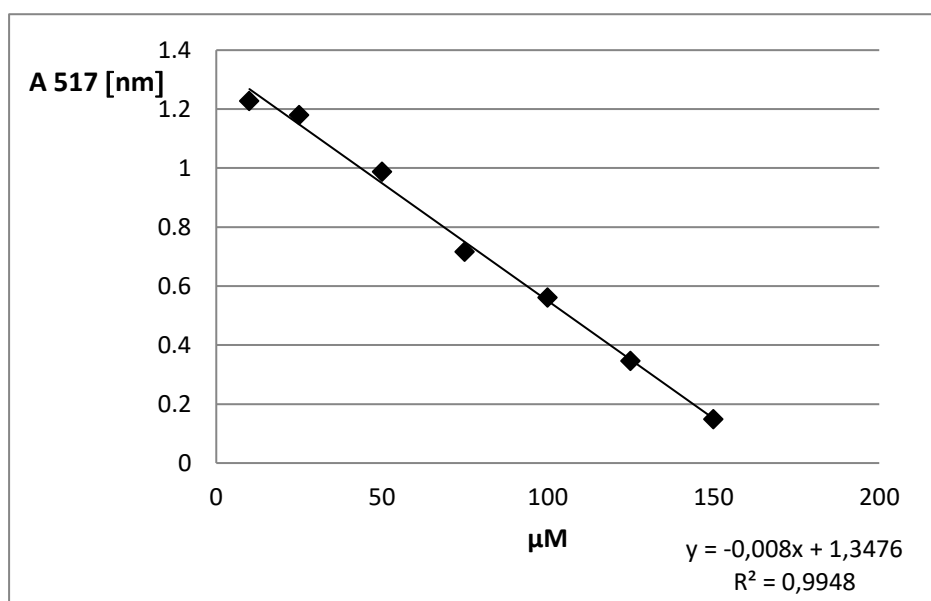
Postupak određivanja

Uzorci napitaka su prije same analize razrijeđeni 10 puta, a koncentrirani sok višnje 50 puta. U staklenu epruvetu se otpipetira 0,75 mL ekstrakta i 1,5 mL 0,2 mM otopine DPPH, koja je pripremljena prema ranije opisanom postupku. Pripremljene otopine uzoraka stoje 20 minuta pri sobnoj temperaturi na tamnom mjestu nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm. Za slijepu probu otpipetira se 2,25 mL 100 %-tnog metanola.

Izrada baždarnog pravca za trolox (0,2 mM DPPH)

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 1 mM otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) tako da se odvaže 0,025 g Troloxa i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjerne tikvici od 100 mL. Od pripremljene otopine Troloxa pripreme se razrjeđenja u koncentracijama od 10, 25,

50, 100, 125, 150 μM . U epruvete se otpipetira 0,75 mL odgovarajuće otopine Troloxa te 1,5 mL 0,2 mM otopine DPPH. Za slijepu probu u epruvetu se otpipetira 2,25 mL 100 %-tnog metanola. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi. Nakon toga se mjeri apsorbancija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu. Na temelju dobivenih vrijednosti apsorbancija nacrtava se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel. Baždarni pravac za otopinu troloxa prikazan je na slici 6.



Slika 6. Prikaz ovisnosti apsorbancije o koncentraciji Troloxa

Račun

Iz dobivenih apsorbancija pri izradi baždarnog pravca u Excelu se izračuna jednadžba pravca koja u ovom radu glasi:

$$y = -0,008x + 1,3476 \quad [4]$$

pri čemu je: y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

x = ekvivalent troloxa (TAE) [μM]

Izračunata vrijednost za ekvivalent Troloxa (x) množi se s faktorom razrjeđenja ovisno o uzorku te dijeli s 1000 kako bi se dobila vrijednost antioksidacijskog kapaciteta u $\mu\text{mol/mL}$.

3.2.6. Određivanje senzorskih svojstava

Princip određivanja

Senzorsko ocjenjivanje napitaka provedeno je pomoću kvantitativne deskriptivne analize (QDA). Deskriptivne senzorske analize su postupci opisivanja i procjenjivanja intenziteta

izraženosti pojedinog senzorskog svojstva proizvoda od strane panel grupe senzorskih analitičara. To je u potpunosti osjetilni opis koji pri ocjenjivanju proizvoda uzima u obzir svaki zapaženi osjet (vizualni, olfaktorni, auditivni...)(Vahčić i sur., 2000).

Postupak određivanja

Napitci su prije određivanja senzorskih svojstava temperirani na sobnu temperaturu. U senzorskom ocjenjivanju sudjelovala je panel grupa od 10 ocjenjivača. Uzorci napitaka servirani su u prozirnim plastičnim čašama volumena 50 mL. Ocjenjivana su sljedeća senzorska svojstva napitaka: intenzitet boje, miris (na list masline, na višnju, strani), okus (slatko, kiselo, gorko, na list masline, na višnju, harmonični, strani) i aroma (na list masline, na višnju, strana). Ispitivana senzorska svojstva ocjenjivanja su skalom od 0 (neizraženo svojstvo) do 10 (maksimalno izraženo svojstvo). Svaki ocjenjivač je svoja zapažanja bilježio u pojedinačni ocjenjivački listić (slika 7).

Ocjenjivač:										Datum:				
Uzorak	BOJA	MIRIS			OKUS							AROMA		
	Intenzitet	Na list masline	Na višnju	Strani	Slatko	Kiselo	Gorko	Na list masline	Na višnju	Harmonični	Strani	Na list masline	Na višnju	Strana
0														
V1														
V2														
V3														
V4														
V5														
V6														
V7														
V8														

Skala: 0-10 (0-neizraženo svojstvo; 10-max. izraženo svojstvo)

Slika 7. Ocjenjivački listić korišten za senzorsku analizu pripremljenih napitaka

3.3. REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati određivanja topljive suhe tvari i pH vrijednosti napitka od lista masline, koncentriranog soka višnje i pripremljenih napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje s i bez dodatka saharoze prikazani su u tablici 2 i 3. Vrijednosti parametara boje L*, a* i b*, te C* i H° napitka od lista masline, koncentriranog soka višnje i pripremljenih napitaka prikazane su u tablici 4. Koncentracija ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet uzoraka samog napitka od lista masline i koncentriranog soka višnje prikazani su u tablici 5. Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih fenola pripremljenih napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje s i bez dodatka saharoze prikazani su na slici 8, a rezultati

mjerenja antioksidacijskog kapaciteta na slici 9. Rezultati senzorske analize pripremljenih napitaka primjenom kvantitativne deskriptivne analize prikazani su grafički u obliku paukove mreže (slika 10). Svi rezultati provedenih analiza prikazani su kao srednje vrijednosti i standardne devijacije dvaju paralelnih mjerenja.

Tablica 2. Rezultati mjerenja topljive suhe tvari

UZORCI	Topljiva suha tvar (%)
M	0,2±0,0
K	66,6±0,4
V1	1,9±0,0
V2	3,6±0,0
V3	4,5±0,2
V4	6,6±0,4
V5	2,0±0,1
V6	3,5±0,1
V7	4,6±0,0
V8	6,3±0,1

Izmjereni udjeli topljive suhe tvari u napitcima od lista masline i koncentriranog soka višnje sa saharozom kreću se u rasponu od 1,9 do 6,6 %. Prilikom pripreme napitaka polazilo se od toga da topljiva suha tvar napitaka sa saharozom bude jednaka topljivoj suhoj tvari napitaka bez dodane saharoze, pa upravo iz tog razloga su i dobiveni rezultati napitaka s i bez saharoze približno jednaki. Dodatkom soka višnje i saharoze u napitak od lista masline kao glavnu sirovinu povećala se topljiva suha tvar konačnih napitaka.

Topljiva suha tvar napitka od lista masline iznosi 0,2 %. Dobivene niske vrijednosti topljive suhe tvari u skladu su s očekivanim s obzirom na to da su u biljnim ekstraktima ugljikohidrati, koji čine najveći udio topljive suhe tvari, zastupljeni u niskim udjelima (Cataldi i sur., 2000). U istraživanju Kapo (2017) topljiva suha tvar ekstrakta lista masline, dobivenog kuhanjem na povratnom hladilu, iznosi 0,6 % što je tri puta veća vrijednost od vrijednosti dobivene u ovom radu zbog toga što je vrijeme provođenja ekstrakcije bilo duže, pa je stoga i provedena ekstrakcija iscrpnija.

Izmjerena topljiva suha tvar koncentriranog soka višnje iznosi 66,6 %. Najveći udio suhe tvari svježeg ploda višnje općenito čine šećeri od kojih su najzastupljeniji glukoza i fruktoza.

U istraživanju Damar i Eksi (2016) određivana topljiva suha tvar 23 različita koncentrirana soka višnje, mjerena s Abbe refraktometrom (NOW, Japan) pri 20 °C, kretala se u rasponu od 64,8-65,3 °Brix-a što je približno jednako dobivenoj vrijednosti topljive suhe tvari određivane u ovom radu. U istraživanju Kušt (2014) izmjerene vrijednosti topljive suhe tvari koncentriranih sokova proizvedenih iz dviju sorti višnje, Maraske i Oblačinske manje su u odnosu na određenu topljivu suhu tvar koncentriranog soka u ovom radu i kreću se oko 60 % što je uobičajeni udio suhe tvari u bistrim koncentriranim sokovima s obzirom na to da je proizvodnja oba koncentrirana soka bila standardizirana.

Tablica 3. Rezultati mjerenja pH vrijednosti

UZORCI	pH
M	5,40±0,00
K	3,36±0,00
V1	3,80±0,00
V2	3,66±0,00
V3	3,61±0,00
V4	3,57±0,00
V5	3,92±0,00
V6	3,77±0,00
V7	3,71±0,00
V8	3,67±0,00

Napitak od lista masline ima višu pH vrijednost u usporedbi s pH vrijednosti pripremljenih napitaka. Izmjerena pH vrijednost samog čaja bez dodataka iznosi 5,40. Viša pH vrijednost biljnih ekstrakata uvjetovana je niskim udjelom organskih kiselina u samim biljnim vrstama iz kojih su ekstrahirani (Haciseferogullari i sur., 2007). Dodatkom koncentriranog soka višnje u napitak od lista masline pH vrijednost se smanjila u odnosu na početnu pH vrijednost. U istraživanju Kapo (2017) dobivena je približno jednaka vrijednost pH ekstrakta lista masline, koja iznosi 5,35.

Izmjerena je pH vrijednost napitaka bez dodatka saharoze u rasponu od 3,57 (V4) do 3,80 (V1), a napitaka sa saharozom u rasponu od 3,67 (V8) do 3,92 (V5). pH vrijednost napitaka se postupno smanjivala dodatkom sve većeg volumena koncentriranog soka. Iz dobivenih rezultata je vidljivo da napitci sa saharozom imaju nešto viši pH u odnosu na napitke bez

saharoze zato što je dodan manji udio koncentriranog soka višnje, ali dodatak saharoze ne utječe značajno na promjenu pH napitaka.

Koncentrirani sok višnje ima najmanju pH vrijednost što je očekivano zbog kiselosti samog ploda višnje. Najzastupljenija organska kiselina u svježem plodu višnje je jabučna kiselina (čini 85-90 % ukupne količine kiselina) te manje zastupljena limunska kiselina (Tanner, 1979). Navedene kiseline su odgovorne za kiselost višnje te se višnja zbog svoje kiselosti uglavnom i prerađuju u različite proizvode. Izmjerena pH vrijednost koncentriranog soka iznosi 3,36 što je u skladu s podacima Naderi i sur. (2015) koji navode pH vrijednosti od 3,30 do 3,40, također u koncentriranom soku višnje.

Tablica 4. Vrijednosti parametara boje napitka od lista masline, koncentriranog soka višnje i pripremljenih napitaka

UZORCI	L*	a*	b*	H°	C
M	96,83±0,01	-1,89±0,00	13,51±0,01	97,99±0,00	13,64±0,01
K	0,14±0,06	0,44±0,01	0,09±0,11	10,78±13,25	0,46±0,04
V1	63,08±0,00	32,71±0,00	29,33±0,01	41,88±0,01	43,93±0,01
V2	42,70±0,01	47,69±0,04	41,22±0,06	40,84±0,08	63,03±0,01
V3	33,82±0,00	50,56±0,00	46,26±0,00	42,46±0,00	68,53±0,00
V4	24,15±0,02	49,51±0,10	40,40±0,06	39,22±0,01	63,90±0,12
V5	76,55±0,00	19,41±0,00	22,24±0,00	48,89±0,00	29,52±0,00
V6	63,65±0,00	32,48±0,00	29,06±0,00	41,82±0,00	43,58±0,00
V7	55,67±0,00	39,71±0,02	33,75±0,02	40,36±0,04	52,11±0,00
V8	47,37±0,00	45,97±0,03	38,93±0,04	40,26±0,01	60,24±0,04

Parametar L* je mjera svjetlosti iskazana vrijednostima od 0 do 100, pri čemu niže vrijednosti ukazuju na tamnije obojenje, a više vrijednosti na svjetlije obojenje ispitivanog uzorka. Vrijednosti parametra L* za napitke dobivene u ovom radu kreću se u rasponu od 24,15 (V4) do 76,55 (V5). Vrijednosti se razlikuju ovisno o udjelu dodanog koncentriranog soka višnje, koji daje tamnije obojenje napitcima. Koncentrirani sok višnje ima najmanju vrijednost jer je najtamnije obojen, a napitak od lista masline ima najveću vrijednost s obzirom na to da je najsvjetliji među ispitivanim uzorcima, odnosno žuto obojen.

Parametar a^* iskazuje spektar od crvene (pozitivne vrijednosti) do zelene boje (negativne vrijednosti). Sve vrijednosti parametra a^* napitaka su pozitivne i kreću se u rasponu od 19,41 (V5) do 49,51 (V4) što ukazuje na crvenu boju napitaka. Međutim kod vrlo tamnih uzoraka kao što je u ovom radu koncentrirani sok višnje vizualni doživljaj crvene boje je smanjen, pa su zato i izmjerene niže a^* vrijednosti. Jedino vrijednost za napitak od lista masline je negativna što ukazuje na zelenkastu boju samog napitka.

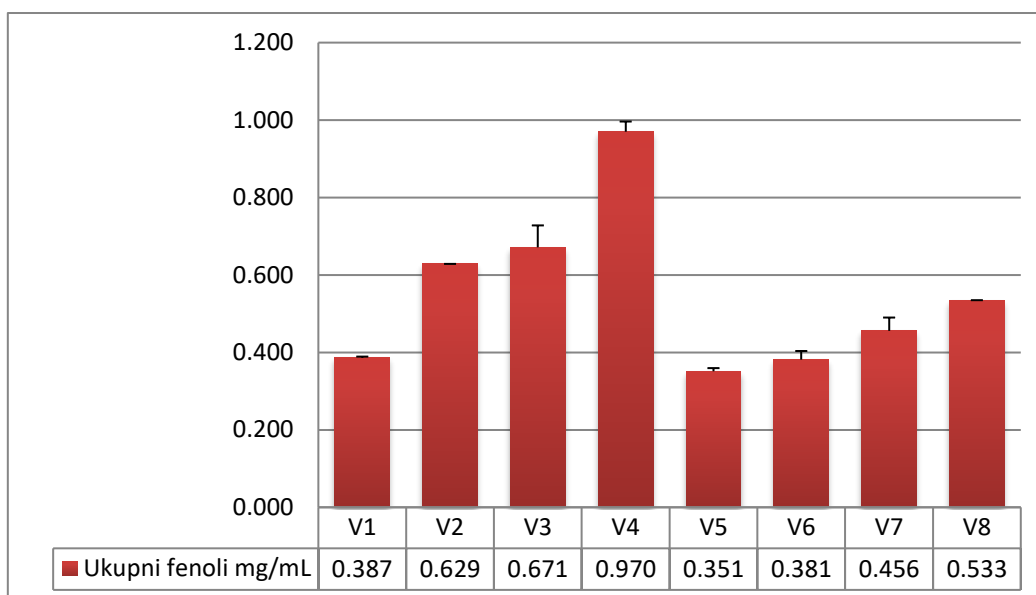
Parametar b^* ukazuje na spektar nijansi između žute (pozitivne vrijednosti) i plave boje (negativne vrijednosti). U ovom radu vrijednosti parametra b^* pokazuju isti trend promjena kao i a^* vrijednosti. Sve vrijednosti b^* za pripremljene napitke su pozitivne i kreću se u rasponu od 22,24 (V5) do 46,26 (V3).

Parametar C označava čistoću ili zasićenost boja, a može se izračunati preko dobivenih vrijednosti parametara b^* i a^* . Vrijednosti C za pripremljene napitke kreću se u rasponu od 29,52 (V5) do 68,53 (V3). Što su vrijednosti parametra C niže, to je zasićenost boje slabija jer približavanjem ishodištu raste udio sive boje, dok udaljavanjem od ishodišta zasićenost boje raste. Niža vrijednost parametra C upućuje na povećanje tona boje (Goncalves i sur., 2007).

Parametar H° ukazuje na ton boje, odnosno vizualni doživljaj boje i može se izračunati pomoću formule [2] ako su poznate vrijednosti parametara b^* i a^* . Definirane vrijednosti parametra H° su: $0^\circ/360^\circ$ crveno-ljubičasta boja, 90° žuta boja, 180° plavo-zelena boja i 270° plava boja (McGuire, 1992). Vrijednosti za parametar H° kreću se u rasponu od $39,22^\circ$ (V4) do $48,89^\circ$ (V5). Prema definiranim vrijednostima za parametar H° dobivene vrijednosti ulaze u crveno-narančasti doživljaj boje. H° vrijednost napitka od lista masline je najveća i iznosi $97,99^\circ$ što odgovara definiranoj vrijednosti za žutu boju.

Tablica 5. Koncentracija ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet napitka od lista masline i koncentriranog soka višnje

UZORCI	UKUPNI FENOLI [mg/mL]	ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET [μmol/mL]
M	0,117±0,001	0,154±0,001
K	5,050±0,414	6,279±0,027



Slika 8. Koncentracija ukupnih fenola (mg/mL) napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje s i bez dodane saharoze

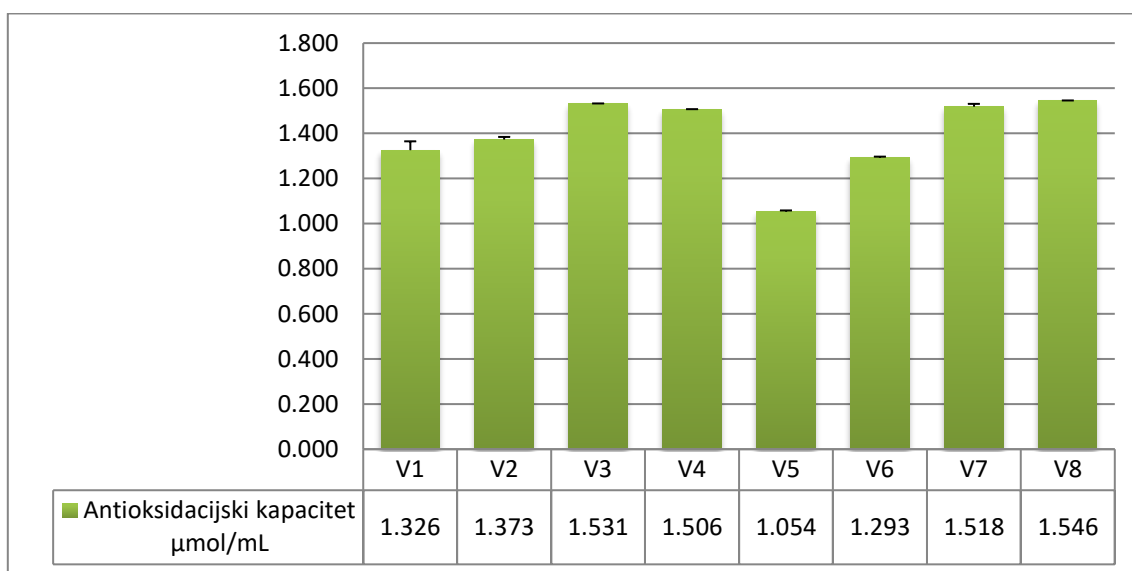
Iz rezultata je vidljivo da je u pripremljenim napitcima koncentracija ukupnih fenola veća u odnosu na koncentraciju u napitku od lista masline. U napitcima je utvrđena pravilnost, odnosno povećanje koncentracije ukupnih fenola s porastom volumena dodanog koncentriranog sok višnje u napitak od lista masline. Vrijednosti ukupnih fenola (slika 8) izmjerenih u ovom radu kreću se u rasponu od 0,387 do 0,970 mg/mL za napitke bez dodane saharoze, a za napitke sa saharozom u rasponu od 0,351 do 0,533 mg/mL. Najveću koncentraciju ukupnih fenola od svih napitaka ima napitak V4 s obzirom na to da je u njega dodan najveći volumen koncentriranog soka višnje, koji je prema dobivenim rezultatima mjerenja puno bogatiji fenolnim spojevima u odnosu na sam napitak od lista masline.

Repajić i sur. (2015) određivali su koncentraciju ukupnih fenola u koncentriranom soku višnje (sorte Maraska i Oblačinska) neposredno nakon proizvodnje. Ukupni fenoli određivani su pomoću Folin-Ciocalteu reagensa uz neke modifikacije metode, pri čemu određena koncentracija ukupnih fenola iznosi 17.9 ± 0.8 mg GAE/g (sorta Maraska) što je dvostruko veći od rezultata dobivenog u ovome radu s obzirom na to da je korišten koncentrirani sok nakon duljeg skladištenja na temperaturi od -18 °C.

U napitku od lista masline određena je najmanja koncentracija ukupnih fenola, koja iznosi 0,117 mg GAE/mL zbog toga što napitak nije koncentriran već je priređen iz 4 g lista masline na 100 mL vode. U istraživanju Hajdinjak (2017) dobivena vrijednost ukupnih fenola u

napitku od lista masline prije skladištenja iznosi 0,276 mg GAE/mL, a nakon skladištenja 0,272 mg GAE/mL. U ovom radu izmjerena je dvostruko manja vrijednost ukupnih fenola što je i očekivano s obzirom na to da su u oba rada korišteni isti listići masline, ali s godinu dana razlike. U brojnim istraživanjima je dokazano kako skladištenjem biljaka na sobnoj temperaturi 3 mjeseca dolazi do smanjenja i antioksidacijskog kapaciteta i fenolnog sastava, što može biti povezano s oksidacijom spojeva koji pokazuju antioksidacijsku aktivnost, dok produženjem skladištenja ne dolazi do značajnih promjena u odnosu na prva 3 mjeseca (Jiménez-Zamora i sur., 2016).

Khaliq i sur. (2014) uspoređivali su antioksidacijski kapacitet i određivali fenolne spojeve u listovima različitih sorti maslina (Gemlik, Frantio, Doleca-Agogia, Moriolo, Mission, Uslu, Leccino i Carotina). Listovi su oprani i posušeni na vrućem zraku pri 40 °C te samljeveni u fini prah. 5 g uzorka prelili su s 250 mL kipuće vode i ostavili na sobnoj temperaturi 30 minuta, nakon čega se otopina profiltrirala te pohranila na -20 °C. Dobivene vrijednosti ukupnih fenola su veće ($109,6 \pm 3,68$ do $161 \pm 1,9$ mg GAE/g) nego u našem radu, ali korišteno je duže vrijeme ekstrakcije i analizirane su druge sorte maslina. Prema dobivenim rezultatima najmanja koncentracija fenola određena je kod sorte Leccino, a najveća kod masline Gemlik, koja je ujedno imala i najveći antioksidacijski kapacitet.



Slika 9. Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol/mL}$) napitaka od lista masline i koncentriranog soka višnje s i bez dodane saharoze

Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta, izmjerene u ovom radu, kreću se u rasponu od 1,326 do 1,531 $\mu\text{mol/mL}$ za pripremljene napitke bez saharoze, a sa saharozom u rasponu od 1,054 do 1,546 $\mu\text{mol/mL}$. U napitcima je utvrđena pravilnost, odnosno povećanje antioksidacijskog kapaciteta s porastom volumena dodanog koncentriranog soka uz mala odstupanja.

Uzorak koncentriranog soka višnje ima najveći antioksidacijski kapacitet u odnosu na pripremljene napitke što je prikazano u tablici 5. Višnje sadrže značajan udio antocijana koji su jedni od glavnih spojeva koji doprinose antioksidacijskoj aktivnosti u višnjama stoga je i očekivano da će dodatkom soka višnje porasti antioksidacijski kapacitet u pripremljenim napitcima. U radu Kušt (2014) antioksidacijski kapacitet uzorka koncentriranog soka višnje maraske uzetog neposredno nakon procesa koncentriranja iz tvornice „Dona d.o.o.“ iznosio je 0,1177 mmol TE/mL što je puno veća vrijednost u odnosu na vrijednost dobivenu u ovom radu s obzirom na to da je uzorak skladišten duži period i korištene su različite metode određivanja.

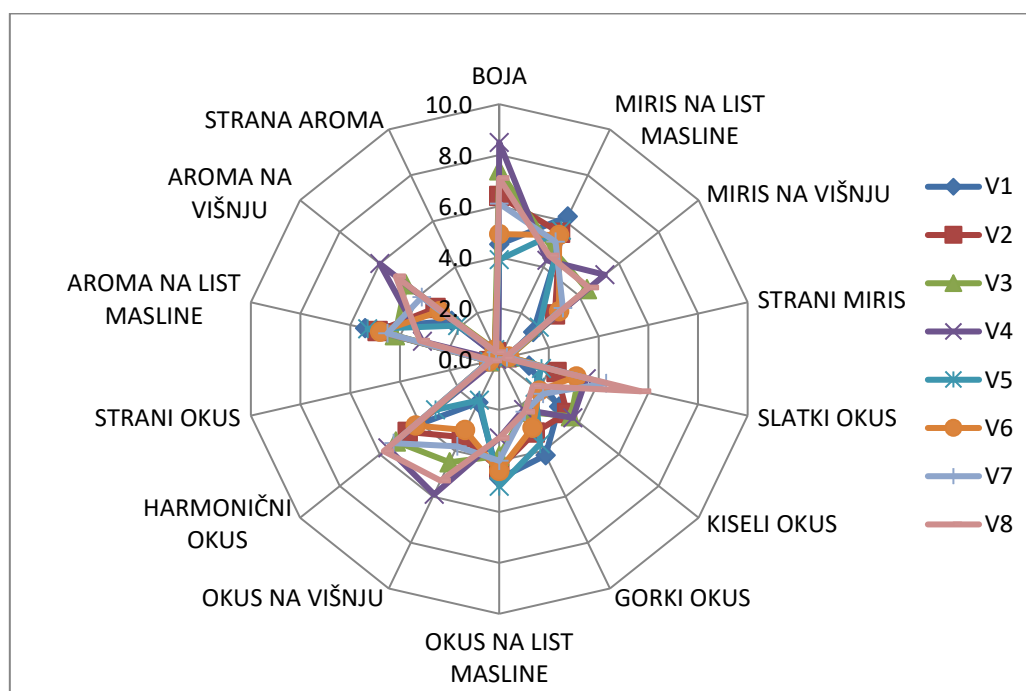
Najmanji antioksidacijski kapacitet određen je u uzorku napitka od lista masline i iznosi $0,154 \pm 0,001 \mu\text{mol/mL}$. Za visok antioksidacijski kapacitet ekstrakta lista masline odgovoran je glavni razgradni produkt oleuropeina, hidroksitirozol (Erbay i Icier, 2010). U istraživanju Hajdinjak (2017) dobivena je približno jednaka vrijednost antioksidacijskog kapaciteta napitka od lista masline, koja iznosi $0,146 \mu\text{mol/mL}$. Napitak od lista masline skladišten je na temperaturama 8, 22 i 30 °C pri čemu su vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta bile približno podjednake u svim uzorcima tijekom skladištenja, tj. nije došlo do značajnih promjena (Hajdinjak, 2017; Ivanković, 2017; Lončarić, 2017). Jiménez-Zamora i sur. (2016.) pratili su skladištenje lišća masline tijekom 3 i 6 mjeseci pri temperaturi od 50 °C. Prema dobivenim rezultatima prva 3 mjeseca došlo je do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta, koji se onda nije značajno promijenio tijekom sljedeća 3 mjeseca skladištenja.

Altio i sur. (2008) određivali su antioksidacijski kapacitet u ekstraktu lista masline pomoću ABTS/ $\text{K}_2\text{S}_8\text{O}_2$ metode koristeći različita otapala za ekstrakciju (70 %-tni etanol, 50 %-tni etanol i vodu), a apsorbancije su izmjerene pri 734 nm. Ekstrakt s izmjerenim najvećim antioksidacijskim kapacitetom (4,36 mmol TEAC/g) i najvećom koncentracijom oleuropeina je dobiven koristeći 70 %-tni etanol kao otapalo za ekstrakciju, dok su s drugim otapalima dobivene dvostruko manje vrijednosti, ali puno veće od vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta izmjerenog u ovome radu. Dobivene su veće vrijednosti zbog dužeg vremena

provođenja ekstrakcije, ali i korištenja različitog otapala, koje se pokazalo puno efikasnije u odnosu na vodu te je i iz toga razloga provedena ekstrakcija iscrpnija. U radu Altiok i sur. (2008) ekstrakt lista masline dobiven je tako što su listići masline osušeni i samljeveni u fini prah, a nakon toga provedena je ekstrakcija pomoću različitih otapala i njihovih vodenih otopina te je dobiveni ekstrakt korišten u analitičke svrhe kako bi se pokazalo koje otapalo je efikasnije za ekstrakciju polifenola.

Senzorsko ocjenjivanje provedeno je samo za uzorke pripremljenih napitaka od lista masline obogaćenih koncentriranim sokom višnje s i bez dodane saharoze. Svojstva koja su ocjenjivana senzorskom analizom bila su: boja, okus, miris i aroma. Ispitivana senzorska svojstva ocjenjivanja su skalom od 0 do 10, pri čemu ocjena 0 označava neizraženo svojstvo, a ocjena 10 označava maksimalno izraženo svojstvo.

Rezultati svih ocjenjivača su obrađeni u programu Excel te su srednje vrijednosti ocjena za pojedino svojstvo grafički prikazane na slici 10 u obliku tzv. "paukove mreže". Najniža ocjena određenog svojstva nalazi se u centru dijagrama, a ocjene se povećavaju prema obodu polarnog dijagrama. Dijagram ima 14 krakova i svaki od njih predstavlja jedno senzorsko svojstvo, a linije između krakova predstavljaju ocjene (Vahčić i sur., 2000).



Slika 10. Rezultati senzorske analize pripremljenih napitaka

Kao baza pripremljenih napitaka korišten je napitak od lista masline u koji su dodani različiti volumeni koncentriranog soka višnje. Žuta boja napitka od lista masline promijenila se dodatkom soka višnje u tamnocrvenu. Intenzitet boje ispitivanih uzoraka pripremljenih napitaka određen je u rasponu od 3,9 (V5) do 8,5 (V4). Dodatak većeg volumena koncentriranog soka daje intenzivnije obojenje napitcima.

Intenzitet mirisa na list masline u pripremljenim napitcima određen je u rasponu od 4,3 (V4) do 6,2 (V1), a mirisa na višnju u rasponu od 1,7 (V1) do 5,3 (V4). U napitku s najvećim dodanim volumenom koncentriranog soka višnje (V4) miris na list masline je najslabije izražen, ali zato je miris na višnju najjače izražen u odnosu na ostale napitke što je u skladu s dobivenim rezultatima. Strani miris nije utvrđen u pripremljenim napitcima.

Intenzitet slatkog okusa u ispitivanim napitcima određen je u rasponu od 1,2 (V1) do 5,7 (V8), a kiselog okusa u rasponu od 1,7 (V8) do 3,7 (V4). Budući da koncentrirani sok višnje ima niži pH u odnosu na sam napitak od lista masline zbog većeg udjela kiselina došlo je do povećanja kiselosti u konačnom pripremljenom napitku. U napitcima gorak okus određen je u rasponu od 2,2 (V4) do 4,2 (V1). Gorak okus pripremljenih napitaka potječe od samog napitka od lista masline i njegov intenzitet se smanjio dodatkom soka višnje i saharoze.

Najintenzivniji okus na list masline ima napitak V5 s obzirom na to da je u njega dodan najmanji volumen koncentriranog soka višnje, a najintenzivniji okus na višnju ima napitak V4 jer je u njega dodan najveći volumen soka višnje. Intenzitet okusa na list masline kretao se u rasponu od 3,1 (V4, V8) do 5,0 (V5), a za okus na višnju u rasponu od 1,8 (V5) do 5,9 (V4). Harmoničnost okusa pripremljenih napitaka određena je u rasponu od 3,2 (V5) do 5,8 (V8). Najviše izražen harmoničan okus imaju napitci V4 i V8, a najmanje izražen ima napitak V5. Strani okus u ispitivanim napitcima nije utvrđen.

Dodatak koncentriranog soka višnje utjecao je na smanjenje intenziteta arome na list masline u pripremljenim napitcima te je u napitku s dodanim najvećim volumenom soka najizraženija aroma na višnju. U napitcima aroma na list masline određena je u rasponu od 3,1 (V4) do 5,4 (V1), a aroma na višnju u rasponu od 2,1 (V5) do 6,0 (V4). Strana aroma nije utvrđena u ispitivanim napitcima.

4. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata i provedene rasprave može se zaključiti:

⇒ Topljiva suha tvar napitka od lista masline iznosi 0,2 %, a pH vrijednost 5,40. Sukladno dodatku soka višnje povećala se topljiva suha tvar (1,9-6,6 %), a smanjila pH vrijednost (3,57-3,92) pripremljenih napitaka u odnosu na sam napitak od lista masline.

⇒ U napitku od lista masline određena je koncentracija ukupnih fenola 0,117 mg/mL i dodatkom koncentriranog soka višnje povećala se sukladno količini dodanog soka te je određena u rasponu od 0,351 do 0,970 mg/mL.

⇒ U napitku od lista masline određen je antioksidacijski kapacitet 0,154 $\mu\text{mol/mL}$ i dodatkom koncentriranog soka višnje povećao se sukladno količini dodanog soka te je određen u rasponu od 1,054 do 1,546 $\mu\text{mol/mL}$.

⇒ Boja napitka od lista masline promijenila se dodatkom koncentriranog soka višnje iz žute u tamnocrvenu. Napitci s dodanim većim udjelom soka višnje imaju intenzivnije obojenje i dolazi do smanjenja L^* i povećanja b^* vrijednosti te prelaska a^* vrijednosti iz negativne u pozitivnu vrijednost što ukazuje na tamnije i crvenije obojenje napitaka. Također, smanjila se H° vrijednost što označava intenzivniju crvenu boju napitaka, te se povećala zasićenost boje, odnosno C vrijednost.

⇒ Senzorskom analizom utvrđeno je da dodatkom većeg udjela koncentriranog soka višnje u napitak od lista masline miris, okus i aroma na list masline se smanjuju. Slatki okus je najizraženiji u napitku s najvećim udjelom saharoze (V8), a kiseli okus u napitku s najvećim udjelom koncentriranog soka višnje (V4). Harmonični okus je najizraženiji u napitku s najvećim udjelom soka višnje i saharoze (V8). Uzevši u obzir sva svojstva najbolje ocijenjen je napitak V4, a zatim V8. Strani miris, okus i aroma nisu zamijećeni u ispitivanim napitcima.

⇒ S obzirom na udio fenolnih spojeva i provedene senzorske analize ispitivanih uzoraka može se zaključiti da napitak od ekstrakta lista masline obogaćen koncentriranim sokom višnje Maraske s i bez dodane saharoze predstavlja napitak bogat fenolnim spojevima, visoke antioksidacijske aktivnosti i poželjnih senzorskih svojstava.

5. LITERATURA

Abaza L., Taamalli A., Nsir H., Zarrouk M. (2015) Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants* **4**, 682-698.

Altıok E., Baygın D., Bayraktar O., Ülkü S. (2008) Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. Separation and Purification Technology **62**, 342–348

Anonymus 1(2017) <<https://www.livestrong.com/article/155700-jojoba-oil-for-acne-prone-skin>> Pristupljeno 26. Srpnja 2018.

Anonymus 2 (2010) <<http://www.maraska.hr/novosti/novost-17-otkup-visnje-maraske>> Pristupljeno 30. Kolovoza 2018.

Ashurst P. R. (2005) Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices, 2. izdanje, Blackwell Publishing, Hereford, UK.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.***99**, 191–203.

Benavente-García O., Castillo, J., Lorente J., Ortuno A., del Rio J.A. (2000) Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* **68**, 457–462.

Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. (1997) Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, **30**, 609–615.

Bradley Jr. R. L. (2010) Moisture and Total Solids Analysis. Food Analysis, 4. izdanje, Nielsen S. S., Springer Science, LLC, str. 85-104

Cataldi T. R. I., Margiotta G., Iasi L. , Di Chio B., Xiloyannis C. i Bufo S. A. (2000) Determination of Sugar Compounds in Olive Plant Extracts by Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection. *Anal. Chem.* **72**, 3902-3907.

Cavalheiro, C.V.; Picoloto, R.S.; Cichoskia, A.J.; Wagner, R.; Ragagnin de Menezes, C.; Zepkaa, L.Q.; Da Crocec, D.M. i Barina, J. S. (2015) Olive leaves offer more than phenolic compounds, fatty acids and mineral composition of varieties from Southern Brazil. *Industrial Crops and Products* 71, 122–127.

Chaovanalikit, A., Wrolstad, R.E. (2004) Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J Food Sci.* 69, FCT67FCT72.

Čalić S., Friganović E., Maleš V., Mustapić A. (2011) Funkcionalna hrana i potrošači. Praktični menadžment, Vol. II, br. 2, str. 51-57

Damar H. I. i Eksi A. (2012) Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Chem.* **135**, 2910-2914.

Damar H. I. i Eksi A. (2016) Antioxidant Capacity, Monomeric Anthocyanin and Total Phenolic Content of Sour Cherry Nectar. *Asian Journal of Chemistry*; Vol. 28, No. 5, 1103-1107.

Dekanski D., Ristić S., Radonjić N. V., Petronijević N. D., Dekanski A., Mitrović D. M. (2011) Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. *J. Serb. Chem. Soc.* **76 (9)**:1207–1218

Delgado-Pertíñez M., Gómez-Cabrera A., Garrido A. (2000) Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Anim. Feed Sci. Technol.* **87(3-4)**: 187-201.

El S.N., Karakaya S. (2009) Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health. *Nutr. Rev.* **67**, 632–638.

Erbay Z., Icier F. (2010) The Importance and Potential Uses of Olive Leaves. *Food Reviews International* **26**:319–334.

Ferretti G., Bacchetti T., Balleggia A., Neri D. (2010) Cherry antioxidants: From farm to table. *Molecules* **15**, 6993-7005.

Gómez-González S., Ruiz-Jiménez J., Priego-Capote F., Luque de Castro M. D. (2010). Qualitative and Quantitative Sugar Profiling in Olive Fruits, Leaves, and Stems by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) after Ultrasound-Assisted Leaching. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 12292–12299.

Gonçalves B., Silva A.P., Moutinho-Pereira J., Bacelar E., Rosa E., Meyer S.A. (2007) Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of colour and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **103**, 976-984.

Gruenwald, J. (2009) Novel botanical ingredients for beverages. *Clin. Dermatol.* **27**, 210-216.

Guinda A., Castellano J. M., Santos-Lozano J. M., Delgado-Hervás T., Gutiérrez-Adán P., Rada M. (2015) Determination of major bioactive compounds from olive leaf. *Food Science and Technology* **64**: 431 - 438.

Haciseferoğulları H., Gezer I., Özcan M. M., MuratAsma B. (2007) Post-harvest chemical and physical–mechanical properties of some apricot varieties cultivated in Turkey. *J. Food Eng.* **79**, 364-373.

Hajdinjak I. (2017) Stabilnost napitka od lista masline tijekom skladištenja pri povišenoj temperaturi. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Herrero M., Temirzoda T.N., Segura-Carretero A., Quirantes R., Plaza M., Ibañez E. (2011) New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *J. Chromatogr. A.* **1218**, 7511–7520.

Ibrahim E. H., Abdelgaleel M. A., Salama A. A., Metwalli S. M. (2016) Chemical and nutritional evaluation of olive leaves and selection the optimum conditions for extraction their phenolic compounds. *J. Agric. Res. Vol.* **42(1)**: 445-459.

Ivanković M. (2017) Stabilnost napitka od lista masline tijekom skladištenja pri sniženoj temperaturi. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez J.M., Luque de Castro M.D. (2006) Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related polyphenols from olive leaves. *J. Chromatogr. A.* **1108**: 76–82.

Jiménez-Zamora A. ,Delgado-Andrade C., Rufián Henares J.A. (2016) Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. *Food Chemistry* **199**: 339 – 346

Kantonci D. (2006) Maslina. *Glasnik zaštite bilja* **29**: 4 - 14.

Kapo A. (2017) Primjena biljnih ekstrakata u proizvodnji funkcionalnih napitaka. Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Khoo G. M., Clausen M. R., Pedersen B. H., Larsen E. (2011) Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis.* **24**, 772-776.

Khaliq A., Sabir S. M., Ahmad S.D., Boligon A. A., Athayde M.L., Jabbar A., Qamar I., Khan A.(2014) Antioxidant activities and phenolic composition of Olive (*Olea europaea*) leaves.*Journal of Applied Botany and Food Quality* **88**, 16 – 21.

Kirakosyan A., Seymour E.M., Urcuyo Llanes D. E., Kaufman P. B., Bolling S. B. (2009) Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chem.* **115**:20–5.

Kiritsakis K., Kontominas M. G., Kontogiorgis C., Hadjipavlou-Litina D., Moustakas A., Kiritsakis A. (2010) Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars. *J Am Oil Chem Soc* **87**:369–376.

Kušt J. (2014) Utjecaj sorte i procesa proizvodnje na parametre kvalitete i biološki aktivne spojeve soka višnje. Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Kopjar M., Piližota V., Hribar J., Simčič M. (2009) Total phenol content and antioxidant activity of water solutions of plant extracts. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 1 (1), 1-7

Lončarić P. (2017) Stabilnost napitka od lista masline tijekom skladištenja na sobnoj temperaturi. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Marković M. i Talić S. (2013) Antioksidacijska aktivnost odabranih hercegovačkih vina. *Kem. Ind.* **62(1-2)**, 7–12.

McGuire R. G. (1992) Reporting of objective colour measurements. *Horticultura Science* **27(12)**: 1254-1255.

Mihoci M. (2015) Spektrofotometrijsko određivanje boje. Osvrti, *Kem. Ind.* **64(11-12)**, 681–694.

Molina-Alcaide E., Yanez-Ruiz D.R. (2008) Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology* **147**: 247 - 264.

Mujić I., Živković J., Nikolić G., Vidović S., Trutić N., Kosić U., Jokić S., Ruznic A. (2011) Phenolic Compounds in Olive Leaf Extract as a Source of Useful Antioxidants. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* **6(3-4)**, 129-133.

Naderi B., Maghsoudlou Y., Aminifar M., Ghorbani M., Rashidi L. (2015) Investigation on the Changes in Color Parameters and Turbidity of Cornelian Cherry (*cornus mass L*) Produced by Microwave and Conventional Heating. *Nutrition and Food Sciences Research* Vol 2, No 4, 39-46.

Pedisić S., Levaj B., Dragović-Uzelac V., Kos K. (2007) Physicochemical composition, phenolic content and antioxidant activity of sour cherry cv. Marasca during ripening. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. **72**, 295-300.

Pereira A.P., Ferreira I.C., Marcelino F., Valentão P., Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A., Pereira J.A. (2007) Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea L.* Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules* **12(5)**, 1153-1162.

Perrinjaquet-Moccetti T., Busjahn A., Schmidlin C., Schmidt A., Bradl B., Aydogan C. (2008) Food supplementation with an olive (*Olea europaea L.*) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. *Phytother Res.* **22**, 1239-1242.

Prior R.L., Wu X.L., Schaich K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53(10)**, 4290-4302.

Repajić M., Bursać Kovačević D., Putnik P., Dragović-Uzelac V., Kušt J., Čošić Z., Levaj B. (2015) Influence of Cultivar and Industrial Processing on Polyphenols in Concentrated Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Juice. *Food Technol. Biotechnol.* **53 (2)** 215–222.

Servili M. i Montedoro G. (2002) Contribution of phenolic compounds in virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**: 602–613.

Shortle E., O'Grady M.N., Gilroy D., Furey A., Quinn N., Kerry J.P. (2014) Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat Science* **98(4)**, 828-834.

Silva S., Gomes L., Leitão F., Coelho A.V. i Vilas Boas L. (2006) Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves. *Food Science and Technology International* **12(5)**: 385 - 396.

Sudjana A. N., D'Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley T. V., Hammer K. A. (2009) Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **33(5)**, 461-463.

Susalit E., Agus N., Effendia I., Tjandrawinata R.R., Nofiarnyc D., Perrinjaquet-Moccetti T., Verbruggend M. (2011) Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine*, **18**, 251-258.

Tanner H., Brunner H.R. (1979) *Getranke-Analytik*. Verlag Heller Chemie und Verwaltungsgesellschaft, Heinz Paris, Schwabisch Hall.

Tayoub G., Sulaiman H., Hassan A.H. i sur. (2012) Determination of Oleuropein in leaves and fruits Syrian olive varieties. *Int. J. Med. Arom. Plant*, **2**:428-33.

Vahčić N., Hruškar M., Marković K. (2000) Metoda kvantitativne deskriptivne analize u senzorskoj procjeni jogurta. *Mljekarstvo* **50(4)**, 279-296.

Vinatoru M. (2001) An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochem.* 8, 303-313.

Voss D. H. (1992). Relating colourimeter measurement of plant colour to the royal horticultural society colour chart. *Hort Science*, **27(12)**, 1256–1260.

Yuan J. J., Wang C. Z., Ye J. Z., Tao R., Zhang Y. S. (2015) Enzymatic Hydrolysis of Oleuropein from *Olea europea* (Olive) Leaf Extract and Antioxidant Activities. *Molecules* **20**, 2903-2921.

Zorić N. (2017) Antifungalni i antigenotoksični učinci oleuropeina. Doktorski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mogeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Andrea Zrinjan

ime i prezime studenta